

---

---

## ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

---

УДК: 616.24-006.61-036.65:616.233-018.7

### СВЯЗЬ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ И ЖЕЛЕЗИСТОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО С ХАРАКТЕРОМ ДИСРЕГЕНЕРАТОРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В РЕСПИРАТОРНОМ ЭПИТЕЛИИ БРОНХОВ ВБЛИЗИ ОПУХОЛИ

О.В. Панкова<sup>1</sup>, В.М. Перельмутер<sup>1,2</sup>, Е.В. Денисов<sup>1</sup>, С.А. Тузиков<sup>1,2</sup>,  
С.В. Миллер<sup>1</sup>, С.А. Васильев<sup>3</sup>, Н.А. Скрябин<sup>3</sup>

*ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск<sup>1</sup>*

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск<sup>2</sup>*

*ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН, г. Томск<sup>3</sup>*

*634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: pancova@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>*

Проведен сравнительный анализ связи между характером дисрегенераторных изменений, возникающих в смежном с опухолью бронхиальном эпителии, и развитием рецидивов плоскоклеточных и железистых карцином легкого. Проведенное исследование не выявило связи между такими параметрами первичного опухолевого процесса, как размер опухолевого узла, наличие лимфогенных метастазов, стадия процесса и рецидивирование плоскоклеточного рака и железистой карциномы легкого. Частота возникновения рецидивов при немелкоклеточном раке легкого находится в опосредованной связи с характером дисрегенерации респираторного эпителия в слизистой бронха вне опухоли. С высокой частотой рецидивы при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого возникали в случаях сочетания базальноклеточной гиперплазии с плоскоклеточной метаплазией (БКГ+ПМ+).

Ключевые слова: дисрегенераторные изменения, респираторный эпителий, рецидивирование, рак легкого.

#### RELATIONSHIP BETWEEN THE DEVELOPMENT OF LUNG SQUAMOUS CELL AND GLANDULAR CARCINOMA RECURRENCES AND THE CHARACTER OF DYSREGENERATORY CHANGES IN BRONCHIAL EPITHELIUM NEAR THE TUMOR

O.V. Pankova<sup>1</sup>, V.M. Perelmutter<sup>1,2</sup>, E.V. Denisov<sup>1</sup>, S.A. Tuzikov<sup>1,2</sup>, S.V. Miller<sup>1</sup>, S.A. Vasilyev<sup>3</sup>, N.A. Skryabin<sup>3</sup>

*Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk<sup>1</sup>*

*Siberian State Medical University, Tomsk<sup>2</sup>*

*Research Institute of Medical Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk<sup>3</sup>*

*5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia,*

*e-mail: pancova@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>*

Comparative analysis of the relationship between the character of dysregenerative changes occurring in the bronchial epithelium adjacent to the tumor and the development of recurrence of squamous cell and glandular carcinomas of the lung was carried out. The study showed no any relationship between such parameters as tumor size, presence of lymphogenic metastasis, tumor stage and tumor recurrences. The incidence of recurrence in non-small cell lung cancer indirectly related to the character of dysregenerative changes in the respiratory epithelium of the bronchial mucosa outside the tumor. High incidence rates of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung were observed in cases with combination of basal cell hyperplasia and squamous metaplasia (BCH+SM+).

Key words: dysregenerative changes, respiratory epithelium, recurrence, lung cancer.

Рак легкого остается одной из основных причин смерти среди онкологических больных во всем мире. Даже после радикального лечения у 60–75 % больных с немелкоклеточным раком

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ. 2013. № 6 (60)

легкого (НМРЛ) происходит прогрессирование опухолевого процесса, которое проявляется в виде местного рецидива, лимфогенных метастазов в грудной полости или развитии отдаленных

метастазов [1, 9]. При хирургическом или комбинированном лечении плоскоклеточного рака и аденокарциномы легких вероятность развития рецидивов в среднем составляет 25–40 % [2]. От своевременного выявления рецидивов зависят эффективность лечения и продолжительность жизни больных. Поэтому актуальной задачей является не только поиск методов раннего выявления рецидивов, но и прогнозирование их развития.

Высокая степень злокачественности первичной опухоли связана с большей частотой рецидивирования при НМРЛ [5]. Есть сведения о зависимости частоты развития рецидивов от стадии заболевания [10, 20]. Большое влияние на частоту рецидивирования оказывают сосудистая инвазия и распространенность опухоли по висцеральной плевре [13]. T. Nakagawa (2008) к неблагоприятным факторам, способствующим возникновению рецидивов при НМРЛ, относит: объем оперативного вмешательства, меньший, чем лобэктомия, и отсутствие лимфодиссекции [15].

Большое внимание в настоящее время уделяется изучению прогностической значимости молекулярно-генетических маркеров, определяемых в опухоли. Для этой цели используются методы FISH, ПЦР и иммуногистохимической (ИГХ) диагностики. Показана связь между нарушением miRNA-опосредованной регуляции генов и прогрессией НМРЛ [6–8, 10, 11, 14, 17–19, 21]. Однако прогностические маркеры для рецидива НМРЛ до сих пор не определены [16]. Методы прогнозирования вероятности развития рецидивов при НМРЛ, которые основывались бы на определении особенностей дисрегенерации респираторного эпителия в смежной с опухолью легочной ткани, вообще отсутствуют.

**Цель исследования** заключалась в определении связи между характером дисрегенераторных изменений, возникающих в смежном с опухолью бронхиальном эпителии, и развитием рецидивов.

#### **Материал и методы**

Изучался операционный материал от 158 больных в возрасте от 41 до 73 лет, прооперированных по поводу плоскоклеточного рака и аденокарциномы легкого T<sub>1-4</sub>N<sub>0-3</sub>M<sub>0</sub> стадии. Плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки был диагностирован у 100 (63,3 %) пациентов, аденокарцинома – у 58 (36,7 %). В предоперационном периоде 78 (49,3 %) больных, из них 52 – с плоскоклеточным

раком, 26 – с аденокарциномой легкого, получили неоадьювантную химиотерапию (НАХТ) по схеме: паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup> внутривенно в 1-й день + карбоплатин AUC 6 внутривенно в 1-й день, проведено 2–3 курса НАХТ с интервалом в 3 нед. Во время радикальной операции 30 (18,9 %) пациентам проводилась интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ) в разовой дозе однократно 10–15 Гр, из них 18 (11,3 %) больным перед сеансом ИОЛТ вводился цисплатин либо гемзар в радиосенсибилизирующих дозировках.

Морфологический диагноз рака легкого устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей легкого» (ВОЗ, Женева, 2003). Пренеопластические (дисплазия (Д) I степени) и неопластические процессы (Д II–III степени) оценивались согласно критериям, предложенным S. Lantuejoul et al. [12].

Материалом для морфологического исследования были опухоль и находящиеся от нее на расстоянии 3–4 см фрагменты ткани удаленного легкого с бронхом. Ткань фиксировалась в нейтральном формалине, проводилась по стандартной методике и заливалась в парафин. Срезы бронхов толщиной 5–6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование осуществлялось с помощью светового микроскопа «Axiostar plus» фирмы «Karl Zeiss», Германия. В участках респираторного эпителия, смежного с опухолью, определяли следующие дисрегенераторные изменения: базальноклеточная гиперплазия (БКГ) и плоскоклеточная метаплазия (ПМ) [12].

Обработка полученных результатов выполнялась с помощью пакета программ «Statistica for 6.0». Для оценки различий между группами по частоте встречаемости признака использовался критерий  $\chi^2$ .

#### **Результаты и обсуждение**

У 16 (10,1 %) из 158 пациентов, вошедших в исследование, в течение 6–26 мес после завершения лечения зарегистрированы рецидивы плоскоклеточного рака или аденокарциномы легкого в культе оперированного бронха. Связи между наличием рецидивов и клиническо-морфологическими характеристиками пациентов не обнаружено (табл. 1). Оказалось, что частота возникновения рецидивов не зависела от пола и возраста пациентов. Также не имели значения гистотип опухоли, стадия процесса, размер опухолевого узла, наличие лимфо-

генных метастазов и тот факт, проводилась или нет пациентам НАХТ.

По результатам микроскопического исследования гистологического материала в респираторном эпителии бронхов, пограничном с опухолью, наблюдались разные варианты дисрегенераторных изменений: базальноклеточная гиперплазия, плоскоклеточная метаплазия, пренеоплазия и неоплазия. Данные дисрегенераторные изменения встречались как самостоятельные процессы, так и в различных сочетаниях в пределах исследуемого фрагмента ткани. Как было нами показано ранее, пре- и неоплазии определялись только при плоскоклеточном раке легкого, причем крайне редко в респираторном эпителии у больных с изолированной БКГ (БКГ+ПМ-) или при ее сочетании с ПМ (БКГ+ПМ+), но с высокой частотой возникали на фоне диффузной ПМ (БКГ-ПМ+Д+) [3].

Из 100 больных плоскоклеточным раком легкого у 40 (40 %) отмечалась плоскоклеточная метаплазия. В 29 из 40 (72,5 %) случаев она сочеталась с БКГ (БКГ+ПМ+), в 11 (27,5 %) – нет (БКГ-ПМ+).

Из данных 11 пациентов у 10 (90,9 %) – ПМ сочеталась с пре- и неоплазией. У одного больного данной группы наблюдалась диффузная ПМ.

Ни у одного из 58 пациентов с аденокарциномой легкого в смежном с опухолью бронхиальном эпителии не было найдено пре- и неопластических изменений плоского эпителия. ПМ определялась в сочетании с БКГ (БКГ+ПМ+) в 10 из 58 (17,2 %) случаев. Распределение больных по группам в зависимости от варианта сочетаний дисрегенераторных изменений и гистотипа опухоли представлено в табл. 2.

В сравниваемых группах изучалась взаимосвязь характера дисрегенерации с частотой возникновения рецидивов. При плоскоклеточном раке рецидивы были выявлены в двух группах: в 90 % случаев, когда в смежных с опухолью участках бронхиального эпителия встречался сочетанный тип дисрегенерации БКГ+ПМ+, в 10 % – при изолированной БКГ (БКГ+ПМ-) (табл. 3). При других вариантах сочетаний дисрегенераторных процессов рецидивирования не наблюдалось. При

Таблица 1

### Характеристика групп больных

Параметры	Рецидивов нет (n=142)	Рецидивы есть (n=16)	p
Плоскоклеточный рак	90 (63,4 %)	10 (62,5 %)	0,93
Аденокарцинома	52 (36,6 %)	6 (37,5 %)	0,94
Пол (м/ж)	120/22 (84,5 %/15,5 %)	13/3 (81,25 %/18,75 %)	0,73
Возраст, лет	58,03 ± 8,72	58,2 ± 5,79	0,94
Размер опухолевого узла, см	3,8 ± 2,33	3,9 ± 2,27	0,89
Наличие/отсутствие лимфогенных метастазов	56/86 (39,4 %)	7/9 (43,7 %)	0,75
Стадия процесса	T <sub>1-2</sub> – 20 (14,1 %)	T <sub>1-2</sub> – 3 (18,75 %)	0,62
	T <sub>3-4</sub> – 122 (85,9 %)	T <sub>3-4</sub> – 13 (81,25 %)	0,61
НАХТ (+/-)	71/71 (50 % / 50 %)	7/9 (43,7 % / 56,3 %)	0,63

Таблица 2

### Распределение больных по группам в зависимости от варианта сочетаний дисрегенераторных изменений и гистотипа опухоли

Вариант дисрегенерации	Плоскоклеточный рак (n=100)	Аденокарцинома (n=58)
БКГ+ПМ+	29	10
БКГ+ПМ-	53	36
БКГ-ПМ+Д+	11 (ПМ+ДI – n=2; ПМ+ДII-III – n=8)	-
БКГ-ПМ-	7	12

аденокарциноме легкого рецидивы возникали, только если в пограничных с опухолью участках бронхиального эпителия наблюдалось сочетание БКГ+ПМ+ (табл. 3). Таким образом, частота возникновения рецидивов при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого выше при сочетании базальноклеточной гиперплазии с плоскоклеточной метаплазией (БКГ+ПМ+).

Известны различные факторы, влияющие на возникновение рецидивов при НМРЛ. Как правило, они относятся к параметрам первичной опухоли. Однако в нашем исследовании не было выявлено связи между такими характеристиками первичного опухолевого процесса, как размер опухолевого узла, наличие лимфогенных метастазов, стадия процесса и рецидивирование НМРЛ. Как отмечалось выше, способы прогнозирования вероятности развития рецидивов при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого, которые основывались бы на определении особенностей дисрегенерации респираторного эпителия в смежной с опухолью легочной ткани, отсутствуют. Проведенное исследование позволило заключить, что частота возникновения рецидивов при НМРЛ находится в опосредованной связи с характером дисрегенерации респираторного эпителия в слизистой бронха вне опухоли. Нам представляется, что природа такой связи обусловлена ролью воспалительной реакции при дисрегенерации в слизистой бронха, а при опухолевом процессе – в строме опухоли, приводящей к изменению состояния эпителия как «нормального», так и опухолевого. Именно с действием определенных цитокинов (TGF $\beta$  и др.) связаны стимуляция или торможение пролиферации эпителиальных элементов, эпителиально-мезенхимальный переход в условиях регенерации (дисрегенерации) и развития карциномы, а также разная степень нарушения созреваия клеток или

их дифференцировки. В связи с этим характер сочетания дисрегенераторных изменений в респираторном эпителии, согласно нашей гипотезе, отражает конститутивные особенности иммунных и воспалительных процессов в организме-носителе опухоли. Опухолевые клетки во многом сохраняют свойства исходного эпителия и также могут реагировать на факторы, связанные с воспалением, что приводит к клиническому проявлению различных форм прогрессии. Вероятно, реагирование опухоли на промоторные стимулы может коррелировать с реактогенностью респираторного эпителия при развитии дисрегенерации, благодаря чему характер дисрегенераторных изменений респираторного эпителия оказывается связанным с послеоперационным течением опухолевой болезни.

Особенностью воспалительной реакции в слизистой бронха при сочетании базальноклеточной гиперплазии и плоскоклеточной метаплазии в сравнении с другими вариантами сочетания дисрегенераторных изменений, по нашим наблюдениям, является наличие в составе инфильтрата большего количества CD138+ плазматических клеток, уменьшение числа CD68+ макрофагов, а также увеличение числа пролиферирующих клеток и лейкоцитов, экспрессирующих bcl-2 и p53 [4]. Судя по этим признакам, воспаление в таких условиях во многом является проявлением эффекторных иммунных реакций, опосредованных Th2 лимфоцитами. Причем, по-видимому, имеет место определенная степень дефектности иммунцитов, которая может заключаться в нарушении механизма их апоптоза на определенных этапах развития воспаления и, возможно, быть связанной с этим хронизацией воспалительного процесса и перманентным воздействием на эпителий соответствующих цитокинов.

Дальнейшее изучение молекулярно-генетических особенностей дисрегенераторных из-

Таблица 3

**Частота возникновения рецидивов плоскоклеточного рака и аденокарциномы легкого при различных вариантах сочетаний дисрегенераторных процессов**

Тип дисрегенерации эпителия	Плоскоклеточный рак (n=100)		Аденокарцинома (n=58)	
	Есть рецидивы (n=10)	Нет рецидивов (n=90)	Есть рецидивы (n=5)	Нет рецидивов (n=53)
БКГ+ПМ+	9 (90 %)	20 (22,2 %)	5 (100 %)	5 (9,4 %)
Другие типы дисрегенерации	1 (10 %)	70 (77,8 %)	-	48 (90,6 %)
	$\chi^2=20,08$ ; p=0,0000		$\chi^2=26,26$ ; p=0,0000	

менений и особенностей воспалительного процесса в смежных с опухолью участках бронхиального эпителия будет полезным для понимания механизмов развития рецидивной опухоли, разработки более точных методов его прогнозирования и профилактики в послеоперационном периоде.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8719.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунова В.А., Маренич А.Ф., Голубев А.В. Современные подходы к лечению больных с местно-распространенным и метастатическим немелкоклеточным раком легкого (HMPJ) // Новое в терапии рака легкого. М., 2003.
2. Минимальные клинические рекомендации Европейского Общества Медицинской онкологии (ESMO) / Под ред. С.А. Тюляндина, Д.А. Носова, Н.И. Перводчикова. М., 2010. С. 155–169.
3. Панкова О.В., Перельмутер В.М., Литвяков Н.В. и др. Взаимосвязь неопластических изменений с базальноклеточной гиперплазией бронхиального эпителия при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 5 (47). С. 57–60.
4. Панкова О.В., Перельмутер В.М., Савенкова О.В. и др. Особенности воспалительной реакции в слизистой бронха в участках базальноклеточной гиперплазии и плоскоклеточной метаплазии на фоне плоскоклеточного рака легкого // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 5 (53). С. 38–45.
5. D'Addario G., Felip E. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Ann. Oncol. 2010. Vol. 21. P. 155–169.
6. Donnem T., Fenton C., Lonvik K. et al. MicroRNA signatures in tumor tissue related to angiogenesis in non-small cell lung cancer // PLoS One. 2012. Vol. 7 (1). e29671.
7. Du L., Pertsemilidis A. microRNAs and lung cancer: tumors and 22-mers // Cancer Metastasis Rev. 2010. Vol. 1. P. 109–22.
8. Gao W., Yu Y., Cao H. et al. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non-small cell lung cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis // Biomed. Pharmacother. 2010. Vol. 64 (6). P. 399–408.
9. Guo N.L., Wan Y.W. Confirmation of gene expression-based prediction of survival in non-small cell lung cancer // Clin. Cancer Res. 2008. Vol. 14 (24). P. 8213–8220.
10. Hung J.J., Jeng W.J., Hsu W.H. et al. Prognostic factors of postrecurrence survival in completely resected stage I non-small cell lung cancer with distant metastasis // Thorax. 2010. Vol. 65. P. 241–245.
11. Jeong Y., Xie Y., Xiao G. et al. Nuclear receptor expression defines a set of prognostic biomarkers for lung cancer // PLoS Med. 2010. Vol. 7 (12). e1000378.
12. Lantuejoul S., Salameire D., Salan C., Brambilla E. Pulmonary preneoplasia – sequential molecular carcinogenetic events // Histopathology. 2009. Vol. 54. P. 43–54.
13. Maeda R., Yoshida J., Ishii G. et al. Risk factors for tumor recurrence in patients with early-stage (stage I and II) non-small cell lung cancer: Patient selection criteria for adjuvant chemotherapy according to the 7th edition TNM classification // Chest. 2011. Vol. 139. P. 855–861.
14. Markou A., Liang Y., Lianidou E. Prognostic, therapeutic and diagnostic potential of microRNAs in non-small cell lung cancer // Clin. Chem. Lab. Med. 2011. Vol. 10. P. 1591–603.
15. Nakagawa T., Okumura N., Ohata K. et al. Postrecurrence survival in patients with stage I non-small cell lung cancer // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2008. Vol. 34. P. 499–504.
16. Patnaik S., Kannisto E., Knudsen S. et al. Evaluation of microRNA expression profiles that may predict recurrence of localized stage I non-small cell lung cancer after surgical resection // Cancer Res. 2010. Vol. 70 (1). P. 36–45.
17. Polleri K., Morero J. et al. Risk of Recurrence in Patients With Surgically Resected Stage I Non-small Cell Lung Carcinoma // Histopathol. Immunohistochem. Anal. 2008. Vol. 1. P. 121–128.
18. Radović S., Babić M., Dorić M. et al. Non-small cell lung carcinoma: cyclin D1, bcl-2, p53, Ki-67 and HER-2 proteins expression in resected tumors // Bosn. J. Basic Med. Sci. 2007. Vol. 3. P. 205–211.
19. Raponi M., Dossey L., Jatke T. et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer // Cancer Res. 2009. Vol. 69 (14). P. 5776–5783.
20. Varlotto J., Recht A., Nikolov M. et al. Extent of lymphadenectomy and outcome for patients with stage I nonsmall cell lung cancer // Cancer. 2009. Vol. 11. P. 851–858.
21. Wang Z.X., Bian H.B., Wang J.R. et al. Prognostic significance of serum miRNA-21 expression in human non-small cell lung cancer // Surg. Oncol. 2011. Vol. 104 (7). P. 847–51.

Поступила 25.09.13